

Tumores neurais na cavidade oral: estudo imuno-histoquímico

Neural tumors in oral cavity: immuno-histokymic study

RESUMO

Introdução: Os tumores neurais são lesões, que têm origem nos nervos periféricos e representam um percentual de 45% dos neoplasmas, que atingem a região de cabeça e pescoço. A alta incidência nessa área é justificada pela quantidade relativamente grande de terminações nervosas periféricas agrupadas. Ainda que sejam de mesma origem neural, sua heterogeneidade microscópica e patogênica lhes conferem um variado padrão de apresentação clínica e histopatológica, diferindo na sua forma de tratamento. O objetivo do presente estudo foi analisar, por meio da técnica imuno-histoquímica, a expressão das proteínas S100 e CD68 em tumores neurais, localizados na cavidade bucal de pacientes atendidos no Serviço de Patologia Bucal da Universidade de Odontologia de Pernambuco. **Metodologia:** Todos os casos referentes a tumores neurais do Serviço de Patologia oral e maxilofacial da Faculdade de Odontologia de Pernambuco foram revistos. Avaliaram-se dados relativos à idade, ao sexo e à localização anatômica. A técnica imunohistoquímica foi realizada por meio do método estreptavidina-biotina, utilizando-se os anticorpos anti: S100 e CD68. A análise foi feita de forma descritiva, conforme dados da pesquisa. **Resultados:** foram avaliados 23 casos de tumores neurais da cavidade bucal, 15 neurofibromas, 6 neuromas traumáticos, 1 neurilemoma e 1 neuroma encapsulado em paliçada. Verificou-se que a proteína S100 foi expressa em todos os casos estudados com positividade variada, e a proteína CD68 apresentou expressão positiva em 18 casos (neuroma traumático, neurofibroma). **Conclusões:** os tumores neurais da cavidade bucal foram considerados raros, visto que ocorreram em apenas 23 casos entre 5.761, ou seja, em 2,3% das lesões biopsiadas da FOP-UPE.

Palavras-chave: Tumores neurais; Proteína S100; Proteína CD68.

ABSTRACT

Introduction: Neural tumors are lesions that originate from peripheral nerves and represent a percentage of 45% of neoplasms that reach the head and neck region. The high incidence in this area is explained by the relatively large number of grouped peripheral nerve endings. Although they are of the same neural origin, their microscopic and pathogenetic heterogeneity give them a varied pattern of clinical and histopathological presentation, as well as differing in their form of treatment. The aim of the present study was to analyze by immunohistochemical technique the expression of S100 and CD68 proteins in neural tumors located in the oral cavity of patients treated at the Oral Pathology Service of the University of Dentistry of Pernambuco. **Methodology:** All cases referring to neural tumors of the Service of Oral and Maxillofacial Pathology of the School of Dentistry of Pernambuco were reviewed. Data regarding age, sex, and anatomical location were evaluated. The immunohistochemical technique was performed by the streptavidin-biotin method using the anti-S100 and CD68 antibodies. The analysis was made in a descriptive way

Anne Gabriele de Albuquerque
Nascimento

Bruna Luna de Araújo

Ana Paula Veras Sobral

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

Ana Paula Veras Sobral
Universidade de Pernambuco, FOP/UPE
Avenida General Newton Cavalcanti, 1650
– Camaragibe/PE - Brasil
CEP: 54753-220
E-mail: ana.sobral@upe.br

according to the research data. **Results:** 23 cases of neural tumors of the buccal cavity, 15 neurofibromas, 6 traumatic neuromas, 1 neurilemoma and 1 palisade encapsulated neuroma were evaluated. It was verified that S100 protein was expressed in all the cases studied with varied positivity, and the CD68 protein showed positive expression in 18 cases (traumatic neuroma, neurofibroma). **Conclusions:** Neural tumors of the oral cavity were considered rare, since they occurred in only 23 cases among 5,761, that is, 2.3% of FOP-UPE biopsied lesions.

Keywords: Neural tumors; S100 protein; CD68 protein.

INTRODUÇÃO

Os tumores neurais são lesões, que têm origem nos nervos periféricos e representam um percentual de 45% dos neoplasmas, que atingem a região de cabeça e pescoço. A alta incidência nessa área é justificada pela quantidade relativamente grande de terminações nervosas periféricas agrupadas. Ainda que sejam de mesma origem neural, sua heterogeneidade microscópica e patogênica lhes conferem um variado padrão de apresentação clínica e histopatológica, diferindo na sua forma de tratamento¹.

Esses tumores ocorrem tanto nos tecidos moles como nos ossos da mandíbula e maxila, e se comportam como o aumento de volume superficial indolor e suave nos tecidos moles da boca, exibindo uma taxa de crescimento lenta e expansão moderada das placas corticais². Geralmente são de etiologia desconhecida, embora alguns estudos sugiram que o tumor é frequentemente encontrado em áreas suscetíveis a trauma, como a língua³.

Apesar de sua ocorrência, as lesões orais são consideradas raras, quando presentes acometem a língua (50% dos casos), palato duro, intraósseos e outras regiões de cabeça e pescoço.

As características clínicas dos tumores neurais variam muito em relação à sintomatologia, uma vez que os pacientes podem relatar dor, parestesia, sensibilidade à palpação e até mesmo lesões assintomáticas⁴.

As variantes histopatológicas mais frequentes encontradas em boca, dos tumores neurais, são: neurofibroma, neurilemoma, neuroma traumático, neuroma parciniano, neuroma encapsulado em paliçada (Neuroma circunscrito solitário) e tumor maligno da bainha do nervo periférico⁵.

Ao final do primeiro semestre do ano de 2016, a OMS divulgou formalmente a nova Classificação dos Tumores Cerebrais, inicialmente na conceituada revista *Acta Neuropathologica* e, em

seguida, com o lançamento do livro editado pela OMS em parceria com a IARC (International Agency for Research on Cancer, Lyon, França). Foi também amplamente divulgado que, desde 2014, foram lançadas as bases para a nova classificação, que propõe um diagnóstico integrado, histológico e molecular, considerando que algumas alterações moleculares podem ser demonstradas com métodos imuno-histoquímicos⁶.

Alguns marcadores imuno-histoquímicos podem ser utilizados para o estudo dos tumores da bainha de nervo periférico, como: CD34 que identifica fibroblastos endoneurais na periferia dos tumores, antígeno epitelial de membrana (EMA), e S-100, que é um marcador neuroectodérmico isolado do sistema nervoso⁷.

A proteína S-100 é uma proteína ácida ligada ao cálcio, descrita inicialmente como uma proteína específica do tecido neural. A sua denominação deriva do fato de ela ser solúvel numa solução de sulfato de amônia a 100% em pH neutro. Posteriormente foi descrita em outras células não neurais, como condrócitos, adipócitos, melanócitos, músculo cardíaco esquelético, células epiteliais e células glandulares⁸.

As proteínas S100 têm sua atividade relacionada com uma variedade de funções intracelulares e extracelulares. Está envolvida na regulação da fosforilação de proteínas, fatores de transcrição, homeostase do cálcio, dinâmica dos componentes do citoesqueleto, atividades enzimáticas, crescimento e diferenciação celular e na resposta inflamatória, podendo mediar a inflamação e atuar como agentes antimicrobianos.

O antígeno CD68 está localizado no lisossomo e fagossomo de macrófagos e monócitos humanos, e os anticorpos que reagem com eles têm sido amplamente utilizados para identificar os macrófagos, **os monócitos e as células de Langerhans** nos tecidos humanos.

Por meio da técnica imunohistoquímica, objetivou-se avaliar a reatividade para marcadores de células neurais, utilizando-se a proteína S-100, bem como a presença de macrófagos por meio da expressão do CD68 em tumores neurais, que acometem a cavidade bucal, diagnosticados no laboratório de Patologia oral e maxilofacial da FOP/UPE.

METODOLOGIA

SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foram selecionados todos os casos de tumores neurais registradas no período de 20 anos (janeiro de 1997 a dezembro de 2017), no

Laboratório de Patologia Oral e Maxilofacial da Faculdade de Odontologia de Pernambuco FOP/UPE. As lesões já haviam sido diagnosticadas pelo exame histopatológico, e foram avaliados os dados demográficos referentes à idade, ao sexo, à raça e à localização anatômica da lesão. A análise morfológica dos tumores baseou-se na classificação de tumores neurais da OMS de 2016.

TÉCNICA IMUNO-HISTOQUÍMICA

As amostras incluídas em parafina foram cortadas em 3µm, desparafinizadas em Xilol e reidratadas em etanol, submetidas à técnica imuno-histoquímica após bloqueio da peroxidase endógena, por meio do método da estreptavidina-biotina peroxidase, otimizado pelo sistema de amplificação LSAB (Labeled Strept Avidin Biotin for mouse primary antibody - DAKO), utilizando-se os anticorpos monoclonais anti-S100 e anti-CD68 submetidos à recuperação de antigênico, sendo revelado pela diaminobenzidina (3,3-diaminobenzidina; Sigma Chemical CO, St Louis, MO USA). O controle negativo consistiu de secções em que o anticorpo primário foi omitido e substituído por meio de IgG1 de murino não imune (X 0931; Dako) ou 1% de BSA-PBS.

AVALIAÇÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA

A imunomarcagem foi analisada à microscopia de luz, considerando-se os seguintes aspectos: o tipo de célula imunopositiva, a localização celular (membrana ou citoplasma), a distribuição tecidual (focal ou difusa). O padrão de imunexpressão foi classificado quanto à presença (+) ou ausência (-) e, quantitativamente para cada caso, foi atribuído um escore de imunomarcagem quanto ao percentual de células positivas: *escore 0* – nenhuma célula positiva, *escore 1*- 1-49% das células positivas; *escore 2*- > 50% células positivas.

ANÁLISE DESCRITIVA

Realizou-se uma análise descritiva dos dados obtidos na pesquisa, utilizando as variáveis: faixa etária, sexo, gradação histológica, tumores neurais e as proteínas s100 e cd68.

RESULTADOS

Foram pesquisados um total de 5.761 tumores registrados no laboratório de Patologia Bucal da Universidade de Odontologia de Pernambuco FOP/UPE, em um período de 20 anos. Deste total, 23 (2,3%) foram tumores de origem neural, sendo 15 casos de neurofibroma (65%), 6 de neurilemoma (26%), 1 caso de neuroma traumá-

tico (4,5%) e 1 de PEN (4,5%). O sexo masculino foi mais frequente em 61% dos casos, entretanto o sexo feminino foi mais frequente nos casos de Neurofibroma (4 casos-27%). Em relação à idade dos pacientes, houve mais prevalência entre as décadas de 11 a 20 e 41 a 50 anos. No que diz respeito à localização anatômica, o lábio superior foi a região mais comum (22%), seguido da mucosa jugal (17%).

Nos casos de Neurofibroma (15 casos), apresentaram-se células fusiformes que, geralmente, exibem núcleo ondulado. Essas células se encontram associadas a delicados feixes entrelaçados de colágenos e a quantidades variadas de matriz mixoide. (**Figura 1A**). Os casos de Neuroma Traumático (6 casos) apresentavam proliferação aleatória de feixes nervosos maduros, mielinizados e não mielinizados dentro de um estroma de tecido conjuntivo fibroso, células fusiformes e infiltrado inflamatório (**Figura 1B**). O caso de Neurilemoma demonstra dois padrões microscópicos em quantidades variáveis: (1) Antoni A caracterizado por fascículos paralelos de células de Schwann (**Figura 1C**). Essas células formam arranjo em paliçada ao redor de área acelular eosinofílica central, corpos de Verocay. O padrão Antoni B é menos celular e menos organizado, e as células fusiformes são arranjadas aleatoriamente, dentro de um estroma frouxo e mixomatoso. O caso de PEN se apresenta bem circunscrito e encapsulado, embora incompleto, especialmente ao longo da porção superficial da lesão. Consiste em fascículos entrelaçados, moderadamente celularizados por células fusiformes, compatíveis com as células de Schwann. O núcleo é ondulado e pontiagudo, sem nenhum pleomorfismo ou atividade mitótica.

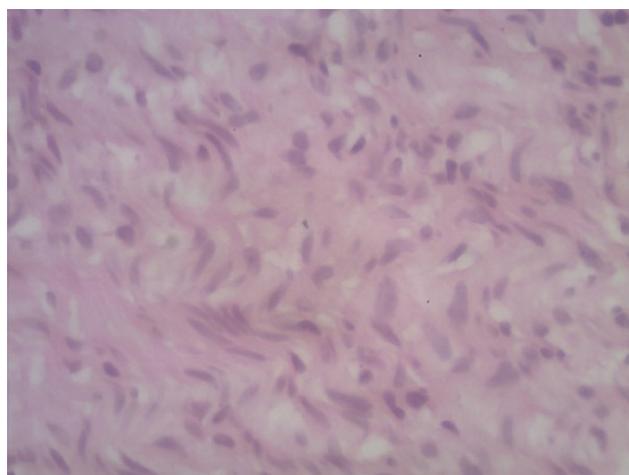


Figura 1A - Análise morfológica do Neurofibroma.

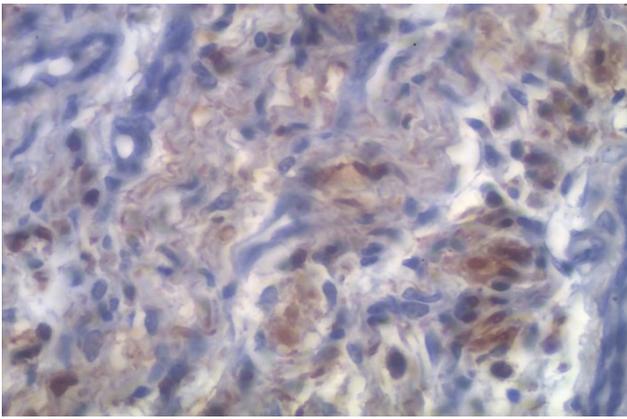


Figura 1B - Análise morfológica do Neuroma Traumático.

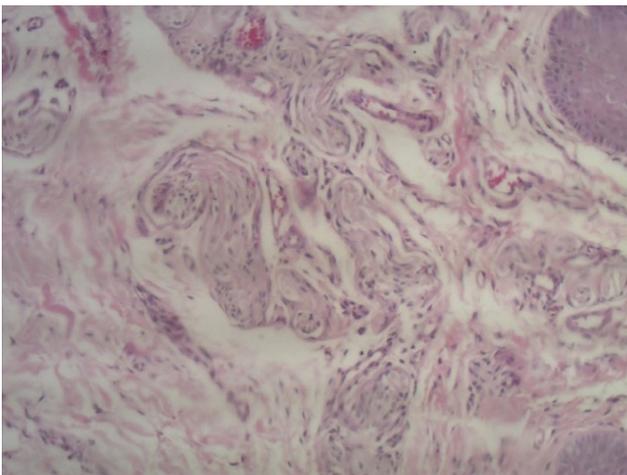


Figura 1C - Análise morfológica do Neurilemoma.

Todos foram positivos para a proteína S100. Nos casos de neurofibroma, 15 foram positivos para proteína S100; destes, observamos em 11 casos escore 1 e, em 4 casos, escore 2 (**Figura 1D**).

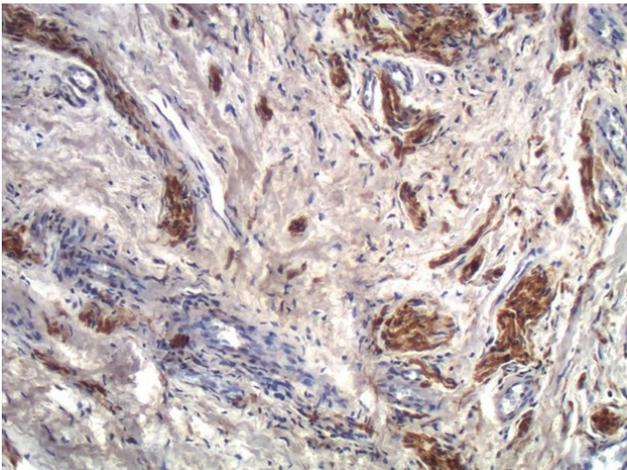


Figura 1D - Neurofibroma em proteína S100.

Por outro lado, no Neuroma traumático, houve 1 caso escore 2, nenhum escore 0 e 5 escore 1. O Neurilemoma teve 1 caso de escore 2, e nenhum de escore 0 e 1. O PEN não teve nenhum caso de escore 2 e 1 caso de escore 1, representando

marcação intensa. Dos 23 casos de tumores neurais estudados, 18 foram positivos para a proteína CD68. 5 apresentaram escore 1; 1 caso de neurofibroma de escore 2 e 11 casos, escore 0 (**Tabela 1**).

Tabela 1 - Escore de positividade para as proteínas dos casos estudados.

	S100	Escore		CD68	Escore		
Neurofibroma	15	0	1	2	0	1	2
Neurilemoma	1	11	4	6	5	1	
Neuroma Traumático	6	5	1	1	1		
PEN	1	1	1				

DISCUSSÃO

Os diagnósticos de tumores neurais são extremamente difíceis, e isso justifica o fato de este trabalho ter descrito, mediante a técnica imuno-histoquímica, a expressão das proteínas S100 e CD68 em tumores neurais localizados na cavidade bucal, a fim de chamar a atenção dos clínicos para um correto diagnóstico.

Apesar de incomum, a ocorrência desses tumores geralmente atinge locais como a língua e o palato duro. A história do paciente e o exame clínico são essenciais para o diagnóstico dessas lesões. Apesar de as características de imagem dos tumores neurais não ter nenhum achado importante, podemos lançar mão da radiologia para garantir a exclusão de outras hipóteses diagnósticas.

A literatura disponível mostra que a manifestação de tumores neurais em boca continua sendo rara. O presente estudo confirma essa informação, pois ocorreram, em apenas 23 casos de 5.761, lesões diagnosticadas no Laboratório de Patologia Bucal da FOP/UPE, representando 2,3% de todas as lesões.

Dentre os tumores achados, o neuroma traumático foi encontrado com maior frequência na língua, nos lábios e na mandíbula, afetando crianças e adultos, apresentando variação de 6 a 42 anos, o que está de acordo com Silva et al⁹. A preponderância do sexo feminino foi observada neste estudo, relatada também pelos mesmos autores acima citados.

No neurofibroma, os locais mais comuns encontrados por Marocchio et al¹⁰. foram a língua, o palato, a mucosa jugal e o assoalho da boca. Em contraste, o sítio principal observado por Friedrich & Reul¹¹ foi a região posterior da mandíbula, enquanto LQBAL et al¹² relataram um raro caso de neurofibroma intraósseo. No presente estudo, a mandíbula, a maxila, o palato e a língua foram as regiões mais frequentemente envolvidas.

Observou-se que o neurofibroma afetou crianças e adultos (9 a 65 anos de idade), com prevalência do sexo feminino, o que está de acordo com os trabalhos de Bjapai et al.¹³.

A localização anatômica para o neurilemoma mais frequente foi o assoalho bucal, e isso corrobora os estudos de Shime & Myoung¹⁴. O neurilemoma ocorreu em uma mulher de 19 anos, o que está de acordo com as pesquisas de Célc et al.¹⁵, que relatam surgirem a maioria dos tumores entre 10 e 40 anos.

Houve uma ocorrência exclusiva de um caso de PEN em mulher com a idade de 66 anos. Autores relataram que essa entidade pode se desenvolver em qualquer lugar da face de adultos, mais frequentemente na 5ª, na 6ª e na 7ª década de vida, afetando igualmente ambos os sexos. Também foi relatado que o PEN raramente aparece na cavidade bucal e, quando diagnosticado, ocorre mais frequentemente no palato e na maxila, em contraste com a presente pesquisa na qual foi encontrado no lábio inferior.

No presente estudo, a proteína S100 foi utilizada na identificação das células de Schwann, por representar um marcador fácil, que auxilia significativamente o processo de diagnóstico. A origem neural de todas as lesões do presente estudo foi confirmada pelos ensaios imuno-histoquímicos para proteína S100, uma vez que todas as lesões foram positivas para essa proteína.

Em 100% dos casos de neuromas traumáticos, as células de Schwann no interior dos fascículos nervosos foram imunorreativas para S100. A marcação positiva também foi encontrada em 100% dos casos de neurofibromas, taxa semelhante à encontrada nas pesquisas de Hirose et al.¹⁵. No presente estudo, o caso de neurilemoma também foi positivo para a proteína S100, dado esse anteriormente relatado por Hirose et al.¹⁵. O caso de PEN revelou positividade, o que é compatível com diversos autores, que registram, na maioria de seus estudos, ter havido 100% dos casos positivos para a proteína S100.

O antígeno CD68 foi utilizado para identificar processo inflamatório crônico nos tumores neurais, tendo 48% da amostra apresentado expressão imuno-histoquímica para a proteína CD68. Expressão imuno-histoquímica também foi relatada em outros tumores de origem não inflamatória, como nos estudos de Filho et al.¹⁶, nos quais foi demonstrada a expressão imuno-histoquímica da proteína CD68 em Fibroma Odontogênico.

O trabalho confirma que a proteína S100 é um marcador para células de Schwann,

considerado um auxiliar importante no diagnóstico dos tumores neurais. Novas pesquisas em relação à proteína CD68 devem ser realizadas para o melhor entendimento do papel dessas células em tumores neurais.

CONCLUSÃO

Devido à raridade das manifestações dos tumores neurais em boca, vários métodos são utilizados em conjunto para facilitar o seu diagnóstico: exame clínico, radiográfico e histopatológico. No presente estudo, demonstramos a importância das proteínas S-100 e CD68 no diagnóstico de tumores neurais com manifestações em cavidade oral, embora o limite deste estudo seja o pequeno número de casos apresentados devido à raridade. Nossos achados demonstram que um diagnóstico cuidadoso e bem estudado implica positivamente o decorrer do tratamento escolhido para tais tumores, preservando, assim, uma boa qualidade de vida para o paciente.

REFERÊNCIAS

1. REGEZI, J.A.; SCIUBBA, J.J. Patologia bucal – Correlações clínico-patológicas. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 475p.
2. PFEIFLE R, BAUR DA, PAULINO A, HELMAN J. Schwannoma of the Tongue: Report of 2 Cases. *Journal Oral Maxillofacial Surgery* 2001; 59:802-4.
3. SOARES, P.B.N et. al. Neurilemoma: a case report. *Rev Odontol Bras Central* 2012;21(56) ISSN 1981-3708.
4. SOUZA, L.B. et al. Neurofibromapaciniano: relato de um caso raro de localização intraoral. *Rev. Bras. Otorrinolaringol.* v. 69 n. 6 São Paulo nov./dez. 2003.
5. NEVILLE BW, DAMM DD, ALLEN CM, BOUQUOT JE, Patologia Oral & Maxilofacial. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2016. 3ed.p.527-533.
6. BERG JC, SCHEITHAUER BW, SPINNER RJ, et al. Plexiform schwannoma: a clinicopathologic overview with emphasis on the head and neck region. *Human Pathology* (2008) 39, 633–640.
7. HIROSE T, TANI T, SHIMADA T, ISHIZAWA K, SHIMADA S, SANO T. Immunohistochemical demonstration of EMA/Glut1-positive perineurial cells

- and CD34-positive fibroblastic cells in peripheral nerve sheath tumors. *Mod Pathol.* 2003;16(4):293-8.
8. HERMANI, A. et al. S100A8 and S100A9 activate MAP kinase and NF- κ B signaling pathways and trigger translocation of RAGE in human prostate cancer cells. *Volume 312, Issue 2, 15 January 2006, Pages 184-197* <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.10.013>.
 9. SILVA, H.C.L., MORENO, R., MIRANDA, S.L. Neuroma traumático em nervo alveolar inferior: relato de caso. *Arch Health Invest* (2016) 5(1): 56-59 <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v5i1.1303>.
 10. MAROCCHIO L.S, OLIVEIRA D.T, PEREIRA M.C, SOARES C.T, FLEURY R.N. Sporadic and multiple neurofibromas in the head and neck region: a retrospective study of 33 years. *Clin Oral Invest.* 2007;11(2):165-9.
 11. FRIEDRICH, R.E., REUL, A., Uma combinação de deformações esqueléticas da mandíbula dorsal e da região temporomandibular detectadas em ortopantomogramas de pacientes com neurofibromatose tipo 1 indica um *neurofibroma* plexiforme ipsilateral associado. *J Craniomaxillofac Surg.* 2018 Jul; 46 (7): 1091-1104. doi: 10.1016 / j.jcms.2018.
 12. LQBAL, A., TAMGADGE, A., CHANDE, M. Intraosseous neurofibroma in a 13-year-old male patient: A case report with review of literature. *J Can Res Ther* 2018;14:712-5.
 13. BJPAL, M., ARORA, M., CHANDOLIA, B. Neurofibroma Solitário da Gengiva - Interpretação Imuno-Histoquímica com S-100. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2017 nov; 27 (11): 738. doi: 2760.
 14. SHIME, S.K., MOUNG, H. Neurilemmoma in the floor of the mouth: a case report. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg.* 2016 Feb; 42(1): 60–64.
 15. CÉLC, BERTOL JD, MAGRO ML, SILVA SO. Neurilemoma – relato de casos. *RFO UPF*; maio-ago2007 12(2):63-67.
 16. FILHO, M.R.P.S et al. CENTRAL ODONTOGENIC FIBROMA IN MANDIBLE: CASE REPORT WITH SHORT LITERATURE REVIEW. *Rev Odontol Bras Central* 2017; 26(79): 86-91.